SNI

SNI 01-2892-1992

Standar Nasional Indonesia

Cara uji gula

ICS 67.180.10

Badan Standardisasi Nasional BSN

Daftar isi

Cara uji gula

1 Ruang lingkup

Standar ini meliputi cara uji gula pereduksi, sakarosa/jumlah gula sebagai sakarosa dan penentuan mono disakarida

2 Persiapan contoh

Persiapan contoh sesuai dengan SNI 01 - 2891 - 1992, *Cara uji makanan dan minuman*, butir 4

3 Gula pereduksi

3.1 Metode Luff Schoorl

3.1.1 Prinsip

Gula reduksi seperti glukosa (desktrosa), fruktosa, maltosa dan laktosa akan mereduksi larutan Luff menjadi Cu_2O. Jumlah larutan gula yang mereduksi larutan Luff ditentukan dengan cara tetrasi dengan larutan natrium tio sulfat.

3.1.2 Peralatan

a) Pemanas listrik
b) Neraca analitik
c) Erlenmeyer 500 ml
d) Pipet volumetrik 10 ml, 25 ml dan 50 ml
e) Labu ukur 100 ml dan 250 ml
f) Penangas air
g) Pendingin tegak
h) Termometer
i) Buret 50 ml
j) Stopwatch

3.1.3 Pereaksi

Larutan Luff Schoorl

Larutkan 143,8 g Na_2 Co_3 anhidrat dalam kira-kira 300 ml air suling.

Sambil diaduk, tambahkan 50 gram asam sitrat yang telah dilarutkan dengan 50 ml air suling.

Tambahkan 25 gram, $CuSO_4.5H_2O$ yang telah dilarutkan dengan 100 ml air suling. Pindahkan larutan tersebut ke dalam labu 1 liter tepatkan sampai tanda garis dengan air suling dan kocok.

Biarkan semalam dan saring bila perlu.

Larutan ini mempunyai kepekatan Cu^{2+} 0,2 N dan Na_2CO_3 2 M.

a) Larutan kalium iodida, KI 20%
b) Larutan asam sulfat, H_2SO_4 25%
c) Larutan natrium tio sulfat, $Na_2S_2O_3$ 0,1 N
d) Larutan asam klorida, HCl 25%
e) Indikator kanji 0,5%
f) Larutan natrium hidroksida, NaOH 4N
g) Larutan indikator fenolftalin
h) Larutan timbal asetat setengah basa atau larutan seng asetat
i) Larutan amonium hidrogen fosfat, $(NH_4)_2$ HPO_4 10% atau larutan kalium ferosianida.

3.1.4 Pengujian kepekatan larutan Luff

a) Pipet 25 ml larutan Luff tambahkan 3 gram KI dan 25 ml larutan H_2SO_4 3M. Titar dengan larutan natrium tio sulfat 0,1 N dengan indikator kanji 0,5%. Larutan natrium tio sulfat yang digunakan untuk titrasi seharusnya 25 ml.
b) Pipet 10 ml larutan Luff, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, encerkan dengan air suling dan kocok.
   Pipet 10 ml larutan hasil pengenceran tersebut dan masukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 25 ml HCl 0,1 M.
   Masukkan Erlenmeyer tersebut dalam penangas air mendidih dan biarkan selama 1 jam, kemudian angkat dan dinginkan.
   Encerkan dengan air suling dan titar dengan larutan NaOH 0,1 M dengan indikator fenolftalin.
   Larutan NaOH 0,1 M yang dipergunakan untuk titrasi harus disekitar 5,5 - 6,5 ml
c) Pipet 10 ml larutan basil pengenceran (b), masukkan ke dalam Erlenmeyer dan titar dengan HCl 0,1 M dengan indikator fenolftalin larutan HCl 0,1 M yang dipergunakan untuk titrasi hares disekitar 6,0 - 7,6 ml.
d) Larutan Luff harus mempunyai pH 9,3 - 9,4.

3.1.5 Cara kerja

a) Timbang seksama 2 gram cuplikan dan masukkan ke dalam labu ukur 250 ml tambahkan air dan kocok.
b) Tambahkan 5 ml Pb asetat setengah basa dan goyangkan.
c) Teteskan 1 tetes larutan $(NH_4)_2HPO_4$ 10% (bila timbul endapan putih maka penambahan Pb asetat setengah basa sudah cukup).
d) Tambahkan 15 ml larutan $(NH_4)_2HPO_4$ 10% untuk menguji apakah Pb asetat setengah basa sudah diendapkan seluruhnya, teteskan 1 - 2 tetes $(NH_4)_2HPO_4$ 10%. Apabila tidak timbul endapan berarti penambahan $(NH_4)_2HPO_4$ 10% sudah cukup.
e) Goyangkan dan tepatkan isi labu ukur sampai tanda garis dengan air suling, kocok 12 kali biarkan dan saring.

Catatan :

Untuk produk susu dan hasil olahannya, fungsi Pb asetat setengah basa digantikan dengan seng asetat dan fungsi $(NH_4)_2HPO_4$ 10% digantikan larutan kalium ferosianida dengan perbandingan 1 : 1.

f) Pipet 10 ml larutan hasil penyaringan dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml.
g) Tambahkan 15 ml air suling dan 25 larutan Luff (dengan pipet) serta beberapa butir batu didih.
i) Panaskan terus menerus 10 menit (pakai *stopwatch*) kemudian angkat dan segera dinginkan dalam bak berisi es (jangan digoyang).
j) Setelah dingin tambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 25 ml larutan H_2SO_4 25% (hati-hati terbentuk gas CO_2)
k) Titar dengan larutan tio 0,1 N dengan larutan kanji 0,5% sebagai indikator, misalkan dibutuhkan V_1 ml tio 0,1N
l) Kerjakan penetapan blanko dengan 25 ml air dan 25 ml larutan Luff, misalkan dibutuhkan V_2 ml tio 0,1 N.

Perhitungan :

$(V_2 - V_l)$ ml tio yang dibutuhkan oleh contoh dijadikan ml 0,1000 N kemudian dalam daftar halaman 8 cari berapa mg glukosa yang tertera untuk ml tio yang dipergunakan (misalnya W_1 mg).

$$\text{\% gula sebelum inversi} = \frac{W_1 \times fp}{W} \times 100\ \%$$

Keterangan:

W_1 = glukosa, mg (halaman 8)

fp = faktor pengenceran

W = bobot contoh (mg)

3.2 Metode Lane dan Eynon

3.2.1 Prinsip

Gula pereduksi seperti glukosa (dekstrosa), fruktosa, maltosa dan laktosa akan mereduksi larutan Fehling menjadi Cu_2O. Jumlah larutan gula yang mereduksi larutan Fehling ditentukan dengan cara titrasi, menggunakan biru metilen sebagai indikator untuk menentukan titik akhir titrasi.

3.2.2 Peralatan

a) Neraca analitik
b) Labu ukur 100 ml dan 250 ml
c) Labu Erlenmeyer 300 ml
b) Labu ukur 100 ml dan 250 ml
c) Labu Erlenmeyer 300 ml
d) Buret 50 ml
e) Gelas piala 100 ml

f) Batu didih
g) Stopwatch
h) Pipet ukur 1 ml
i) Pipet volume 10 ml dan 50 ml
j) Pemanas listrik (*hot plate*)
k) Kertas saring Whatman No. 1

3.2.3 Pereaksi

3.2.3.1 Larutan penjernih (*clearing agent*)

a) Kalium ferrosianida, $K_3Fe(CN)_6$ $3H_20$
b) Seng asetat, $(CH_3COO)_2Zn.2H_20$
c) Asam asetat glasial

3.2.3.2 Pembuatan larutan penjernih

a) Larutan Carrez I
   Larutkan 21,9 gram $(CH_3$ - $COO)_2Zn.2H_20$ dalam air yang mengandung 3 gram asam asetat glasial, tepatkan sampai 100 ml dengan air suling.
b) Larutan Carrez II
   Larutkan 10,6 gram $K_4Fe(CN)_63H_20$ dalam air suling, tepatkan sampai 100 ml.

3.2.3.3 Biru metilena 1%

3.2.3.4 Larutan Fehling

a) Fehling I $CuSO_4.5H_20$
b) Fehling II
   *Na-K-tartrat
   COOK CHOH.CHOH.$COONa.4H_20$
   * NaOH

3.2.3.5 Pembuatan larutan Fehling

a) Fehling I
   26,28 gram $CuSO_4.5H_20$ dilarutkan di dalam air suling sampai I liter.
b) Fehling II
   Larutkan 346 gram Na-K-tartrat ditambah 100 gram NaOH dilarutkan dalam air suling sampai 1 liter.
c) Pada penggunaan larutan Fehling, campurkan larutan Fehling I dan Fehling II dengan perbandingan 1 : 1.

3.2.3.6 Kalsium Karbonat ($CaCO_3$)

3.2.4 Cara kerja

a) Timbang seksama 7-8 gram contoh di dalam gelas piala 100 ml, ditambah air suling

secukupnya sampai larut.

b) Bila contoh mengandung asam, sebelum dilarutkan dengan air tambahkan 1 gam $CaCO_3$. untuk mencegah inversi.

c) Bila contoh mengandung lemak, tambahkan larutan penjernih yaitu 5 ml larutan Carrez I dan 5 ml larutan Carrez II.

d) Setelah contoh larut, pindahkan ke dalam labu ukur 250 ml, tambah air suling sampai tanda garis.

e) Pipet 100 ml larutan, pindahkan ke dalam labu ukur 250 ml, tambah air suling sampai tanda garis.

f) Pipet 10 ml larutan Fehling, masukkan ke dalam gelas Erlenmeyer 300 ml tambah beberapa butir batu didih.

g) Isikan larutan contoh ke dalam buret.

h) Alirkan 15 ml larutan contoh ke dalam gelas Erlenmeyer yang berisi larutan Fehling, biarkan mendidih selama 1 menit di atas pemanas listrik, tambahkan penunjuk biru metilen 5 tetes, biarkan tetap mendidih sambil menambahkan larutan contoh dari buret tetes demi tetes sampai warna biru berubah menjadi orange/merah Catat jumlah ml larutan contoh.

i) Ke dalam Erlenmeyer yang lain, pipet 10 ml larutan Fehling dari buret, tambahkan 2 ml kurang dari jumlah larutan contoh hasil titrasi di atas, didihkan larutan selama 2 menit, tambah penunjuk biru metilen 5 tetes, lanjutkan titrasi sampai titik akhir dicapai.

   Perhitungan :

   Jumlah ml gula inversi (*invert*) sesuai dengan jumlah ml dapat dilihat pada tabel 2.

   % gula pereduksi (dihitung sebagai gula inversi) =

$$x = \frac{250}{V} \times \frac{C}{1000\ W} \times \frac{250}{100} \times 100\%$$

   Keterangan :

   V = volume larutan contoh yang digunakan pada penitaran, ml

   C = faktor Fehling dari tabel, mg

   W = bobot cuplikan.

Catatan:

Titrasi harus selesai dalam waktu 3 menit dan dilakukan larutan harus dalam keadaan mendidih.

4 Sakarosa/jumlah gula sebagai sakarosa

4.1 Metode Luff Schoorl

4.1.1 Prinsip

Sakarosa dihidrolisis menjadi gula pereduksi. Jumlah gula pereduksi ditentukan dengan cara seperti pada penetapan kadar gula pereduksi. Hasil kali faktor kimia dengan selisih kadar gula sesudah dan sebelum inversi menunjukkan kadar sakarosa.

4.1.2 Peralatan

a) Seperti pada penetapan kadar gula pereduksi
b) Penangas air

4.1.3 Pereaksi

Seperti pada penetapan gula pereduksi.

4.1.4 Cara kerja

a) Pipet 50 ml hasil saringan pada penetapan gula pereduksi ke dalam labu ukur 100 ml
b) Tambahkan 25 ml HCl 25%, pasang termometer dan lakukan hidrolisis di atas penangas air. Apabila suhu mencapai 68-70°C suhu dipertahankan 10 menit tepat.
c) Angkat dan bilas termometer dengan air lalu dinginkan.
d) Tambahkan NaOH 30% sampai netral (warna merah jambu) dengan indikator fenolftalin. Tepatkan sampai tanda tera dengan air suling, kocok 12 kali.
e) Pipet 10 ml larutan tersebut dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml.
f) Tambahkan 15 ml air suling dan 25 ml larutan Luff (dengan pipet) serta beberapa butir batu didih.
g) Hubungkan dengan pendingin tegak dan panaskan di atas penangas listrik. Usahakan dalam waktu 3 menit sudah harus mulai mendidih. Panaskan terus sampai 10 menit (pakai *stop watch*). Angkat dan segera dinginkan dalam bak berisi es (jangan digoyang). Setelah dingin tambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 25 ml H_2SO_4 25% (hati-hati terbentuk gas CO_2)
h) Titar dengan larutan tio 0,1 N (V_1 ml) dengan larutan kanji 0,5% sebagai indikator.
i) Lakukan juga penetapan blangko dengan 25 ml larutan Luff. Kerjakan seperti di atas (V_2 ml)

Perhitungan :

(V_2 - V,) ml tio yang dibutuhkan oleh contoh dijadikan ml tio 0,1000 N kemudian dalam daftar (halaman) dicari berapa mg glukosa yang tertera untuk ml tio yang dipergunakan (misalnya x mg).

$$\% \text{ gula sesudah inversi} = \frac{V_2 \times fp}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

V_2 = glukosa (yang dihasilkan dari daftar, mg)
fp = faktor pengenceran
W = bobot cuplikan, mg
% - = gula total = 0,95 x % gula sesudah inversi (sebagai sakarosa)
% - = sakarosa = 0,95 x % gula (sesudah - sebelum inversi)

4.2 Metode Lane dan Eynon

4.2.1 Prinsip

Sakarosa dihidrolisis menjadi gula pereduksi. Jumlah gula pereduksi ditentukan dengan cara seperti pada penetapan kadar gula pereduksi. Hasil kali faktor kimia dengan selisih kadar gula sesudah dan sebelum inversi menunjukkan kadar sakarosa.

4.2.2 Peralatan

a) Seperti pada penetapan kadar gula pereduksi
b) Penangas air (water bath)

4.2.3 Pereaksi

a) Seperti pada penetapan kadar gula pereduksi
b) Asam khlorida, HCl 6,3 M
c) Natrium hidroksida, NaOH 6,25 M
d) Kertas lakmus

4.2.4 Cara kerja

a) Pipet 50 ml larutan contoh dari penetapan kadar gula pereduksi, masukkan ke dalam tabu ukur 250 ml.
b) Tambahkan 10 ml HC1 6,3 M dan air suling 25 ml, panaskan di dalam penangas air pada suhu 60°C, goyangkan selama 3 menit.
c) Biarkan labu ukur terendam di dalam penangas air selama 6 menit, dinginkan dengan segera.
d) Netralkan larutan dengan NaOH 6,25, tambah air suling sampai tanda garis.
e) Penetapan jumlah gula pereduksi sesudah inversi dilakukan seperti pada penetapan kadar gula pereduksi sebelum inversi.

   Perhitungan :

   % jumlah gula pereduksi (dihitung sebagai gula inversi)

$$T = \frac{W_1}{V} \times \frac{250}{1000\,W} \times \frac{250}{100} \times \frac{250}{50} \times 100\,\%$$

Keterangan :

V = Titer volume larutan contoh yang digunakan pada penitaran, ml

W_1 = gula inversi (dari tabel), mg

W = bobot cuplikan, gram

Kadar sakarosa = 0,95 (T - X)

T = % jumlah gula pereduksi (sesudah inversi)

X = % gula pereduksi (sebelum inversi)

Tabel 1
Penetapan gula menurut Luff Schrool

$Na_2S_2O_3$, 0,1 N ml	Glukosa, Fruktosa Gula inversi mg	Laktosa mg	Maltosa mg
1	2,4	3,6	3,9
2	4,8	7,3	7,8
3	7,2	11,0	11,7
4	9,7	14,7	15,6
5	12,2	18,4	19,6
6	14,7	22,1	23,5
7	17,2	25,8	27,5
8	19,8	29,5	31,5
9	22,4	33,2	35,5
10	25,0	37,0	39,5
11	27,6	40,8	43,5
12	30,3	44,6	47,5
13	33,0	48,6	51,6
14	35,7	52,2	55,7
15	38,5	56,0	59,8
16	41,3	59,9	63,9
17	44,2	63,8	68,0
18	47,1	67,7	72,2
19	50,0	71,1	76,5
20	53,0	75,1	80,9
21	56,0	79,8	85,4
22	59,1	83,9	90,0
23	62,2	88,0	94,6

Tabel 2
Faktor Fehling

Titre (ml) Fehling	Invert (mg)		Dextrose (mg)		Hydrated lactose (mg)	
	10	25	10	25	10	25
15	50,5	123,6	49,1	120,2	68,3	172,5
17	50,7	123,6	49,3	120,2	68,2	171,7
19	50,8	123,7	49,4	120,3	68,1	171,1
21	51,0	123,8	49,5	120,3	68,0	170,6
23	51,1	123,9	49,7	120,4	67,9	170,2
25	51,2	124,0	49,8	120,5	67,9	169,9
27	51,4	124,1	49,9	120,6	67,8	169,5
29	51,5	124,2	50,0	120,7	67,8	169,2
31	51,6	124,3	50,2	120,8	67,8	168,9
33	51,7	124,4	50,3	120,9	67,8	168,6
35	51,8	124,5	50,4	121,0	67,9	168,4
37	51,9	124,6	50,5	121,1	67,9	168,1
39	52,0	124,7	50,6	121,2	67,9	167,9
41	52,1	124,8	50,7	121,3	68,0	167,7
43	52,2	124,9	50,8	121,4	68,0	167,6
45	52,3	125,0	50,9	121,5	68,1	167,4
47	52,4	125,1	51,0	121,6	68,2	167,3
49	52,5	125,2	51,0	121,7	68,2	167,2
50	52,5	125,3	51,1	121,8	68,3	167,1

5 Penentuan mono/disakarida

5.1 Metode

Kromatografi cair kinergi tinggi (HPLC)

5.2 Prinsip

HPLC

5.3 Peralatan

5.3.1 HPLC

a) Pompa (Model 6000 A)
b) Injektor (Model U 6 K)
c) Detector indeks refraksi (Model R-401)
d) Integrator *spectro physics* (SP 4920)

5.3.2 Kolom radial — pak silica

Cartrigde (10 cm x 8 mm I.D.) yang dikompresi dengan *waters* RCM — 100 (*Radial Compression A·fodule*).

5.4 Pereaksi

5.4.1 Standar gula (p.a)

Siapkan larutan baku dari jenis gula dianalisis dengan konsentrasi lebih kurang 2% dan jumlah larutan baku yang diinjeksikan ke dalam kolom lebih kurang 2 ml.

5.4.2 Pereaksi untuk mengkondisikan kolom silika Buat dengan mencampurkan 5 vial (20 ml) pereaksi SAM 1 ke dalam campuran asetonitril/air (385/15).

5.4.3 Fase gerak

Buat dengan mencampurkan 1 vial pereaksi SAM 1 ke dalam campuran asetonitril/air (770/210).

5.5 Cara kerja

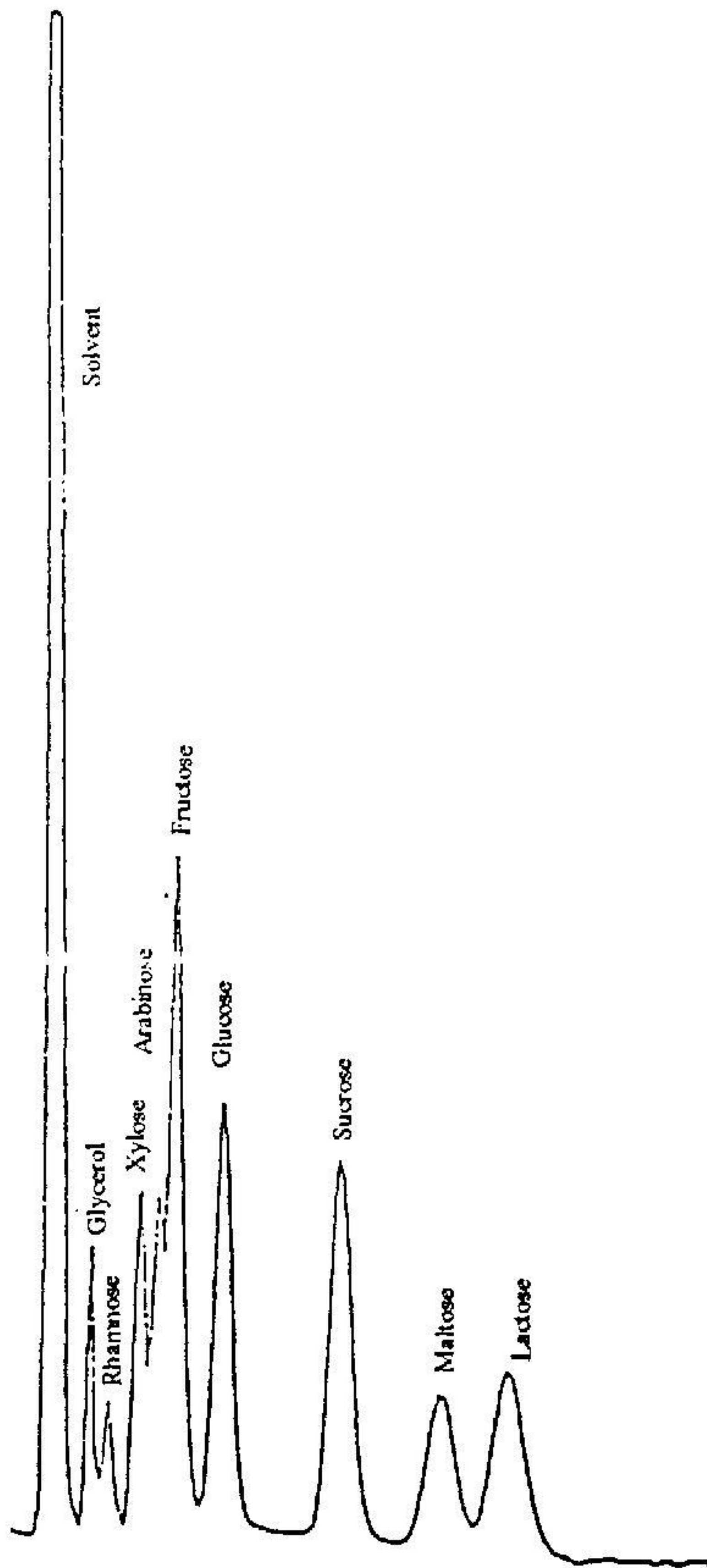
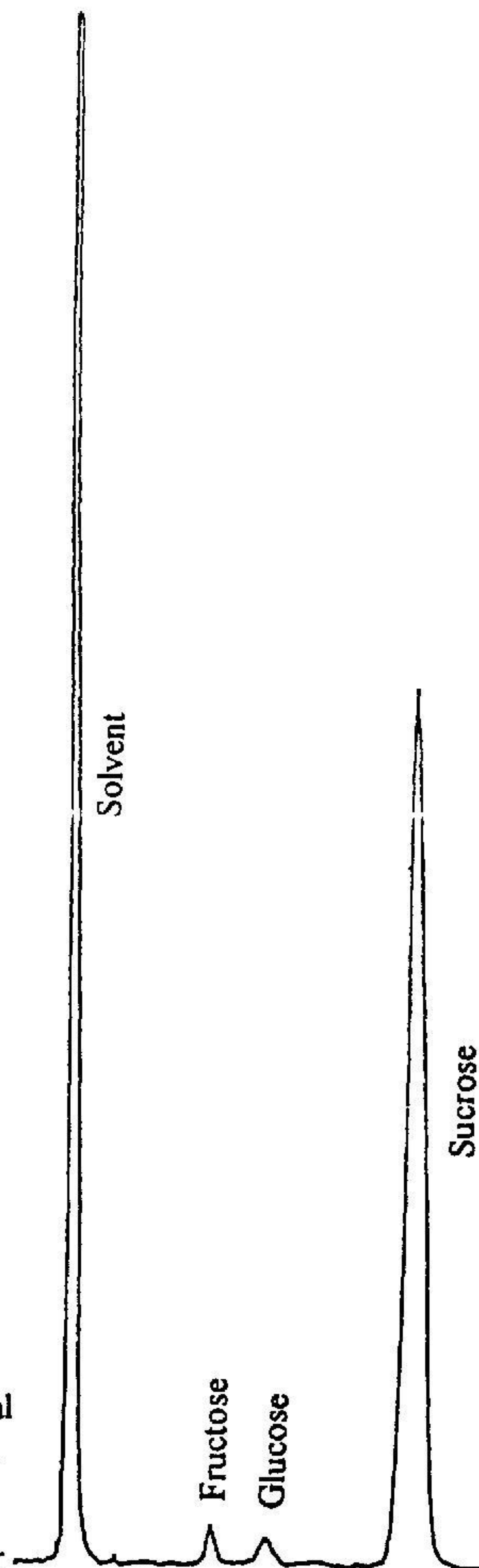
5.5.1 Siapkan beberapa standar gula dan analisis masing-masing senyawa tersebut untuk menetapkan waktu retensinya.

5.5.2 Setelah waktu retensi dari masing-masing gula tersebut diketahui, dibuat suatu larutan baku campuran

5.5.3 Campuran standar ini yang kemudian digunakan untuk keperluan analisa kuantitatif.

5.5.4 Sebelum diinjeksikan ke dalam kolom, baik larutan baku maupun larutan contoh harus disaring terlebih dahulu melalui penyaring membran dengan ukuran 0,45 µ.m.

5.5.5 Kandungan gula dalam larutan contoh dihitung dengan cara membandingkan luas puncak masing-masing jenis gula yang dihasilkan pada kromatogram contoh terhadap luas puncak yang dihasilkan pada kromatogram campuran standar (lihat lampiran)

Lampiran 1

Gambar 1. The separation of sugars. Column: Radial Pak silika catridge in RCM-100. Column conditioning: 500 mL acetonitrile-water (385:15) and 5 vials of waters SAM reagent 1. Eluent: acetonitrile-water (770:210) and 1 vial SAM reagent 1. Flow rate: 3mL/min. Detector: differential refractometer. Retention time (min): glycerol 2.21, rhamnose 2.67, xylose 3.37, arabinose 3.80, fructose 4.18, glucose 5.39, sucrose 8.25, maltose 10.58, lactose 12.12

Gambar 2. A chromatogram of palm sugar (HPLC conditions as in figure 1.)